

4(5)-(3-INDOLYL) IMIDAZOLE DERIVATIVE**Publication number:** JP11199582 (A)**Publication date:** 1999-07-27**Inventor(s):** KOBORI TAKEO; HATANAKA YURIKO; OTA TOMOKI; NAKANISHI MISA;
TOMIZAWA KAZUYUKI +**Applicant(s):** SAGAMI CHEM RES; TAISHO PHARMA CO LTD +**Classification:**

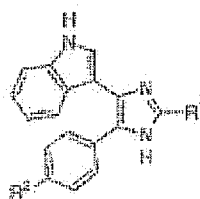
- international: A61K31/415; A61K31/44; A61K31/4427; A61K31/443; A61K31/4433; A61K31/47;
A61P25/00; A61P25/28; A61P43/00; A61P9/00; C07D401/14; C07D403/04;
C07D403/14; C07D405/14; C07D409/14; C07D495/04; C12N9/99; A61K31/415;
A61K31/44; A61K31/4427; A61K31/47; A61P25/00; A61P43/00; A61P9/00;
C07D401/00; C07D403/00; C07D405/00; C07D409/00; C07D495/00; C12N9/99;
(IPC1-7): A61K31/415; A61K31/44; A61K31/47; C07D401/14; C07D403/04;
C07D403/14; C07D405/14; C07D409/14; C07D495/04; C12N9/99

- European:

Application number: JP19980000352 19980105**Priority number(s):** JP19980000352 19980105**Abstract of JP 11199582 (A)**

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a new compound having a specific indolylimidazole skeleton, useful for improving cerebral circulation or main function against cerebrovascular or senile dementia by selectively inhibiting calcium calmodulin- dependent phosphodiesterase.

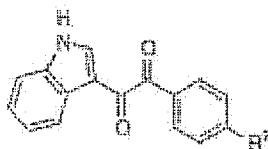
SOLUTION: This new compound is the compound of formula I [R<1> is a (substituted) indolyl, a (substituted) benzofuranyl, a (substituted) pyridyl or the like; R<2> is a lower alkoxy] or a salt thereof, e.g. 2-(2-benzofuranyl)-4(5)-(3-indolyl)-5(4)-(4-methoxyphenyl) imidazole. The compound of formula I is obtained by condensing a compound of formula II with indole-3-glyoxyl chloride in the presence of a Lewis acid to provide a compound of formula III, and reacting the compound of formula III with a compound of the formula R<1> CHO in the presence of an excess ammonia or ammonium salt.



I



II



III

Data supplied from the **espacenet** database — Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-199582

(43) 公開日 平成11年(1999) 7月27日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	F I	
C 0 7 D 403/04	2 0 9	C 0 7 D 403/04	2 0 9
A 6 1 K 31/415	ABN	A 6 1 K 31/415	ABN
	AED		AED
31/44	AAM	31/44	AAM
31/47	AAB	31/47	AAB
審査請求 未請求 請求項の数 1 O L (全 7 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号	特願平10-352	(71) 出願人	000173762 財団法人相模中央化学研究所 神奈川県相模原市西大沼4丁目4番1号
(22) 出願日	平成10年(1998) 1月5日	(71) 出願人	000002819 大正製薬株式会社 東京都豊島区高田3丁目24番1号
		(72) 発明者	小堀 武夫 神奈川県厚木市毛利台3-27-14
		(72) 発明者	島中 百合子 茨城県つくば市吾妻2丁目1-2 713-1202
		(74) 代理人	弁理士 北川 富造
		最終頁に続く	

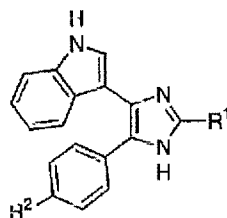
(54) 【発明の名称】 4 (5) - (3-インドリル) イミダゾール誘導体

(57) 【要約】

【課題】 Ca-カルモジュリン依存性ホスホジエステラーゼ (PDE I) 阻害作用を有する化合物を提供し、ひいては脳血管閉塞後の中枢機能低下症、脳血管性痴呆症、老人性痴呆症、記憶・学習機能障害等の疾患に対する脳循環または中枢機能改善に役立てることにある。

【解決手段】 式

【化4】



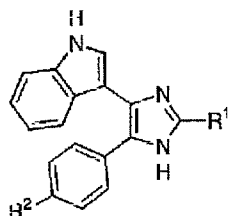
〔式中、R¹はインドリル基、ベンゾフラニル基、ピリジル基、1, 3-ベンゾジオキサソリル基、ナフチル基、キノリル基、フラニル基、ピロリル基、ピラゾリル基、イミダゾリル基若しくはチエノ〔2, 3-b〕チエニル基、または置換基を有するインドリル基、ベンゾフラニル基、ピリジル基、1, 3-ベンゾジオキサソリル基、ナ

フチル基、キノリル基、フラニル基、ピロリル基、ピラゾリル基、イミダゾリル基若しくはチエノ〔2, 3-b〕チエニル基を示し、R²は低級アルコキシ基を示す。〕で表わされる4 (5) - (3-インドリル) イミダゾール誘導体またはその塩。

【特許請求の範囲】

【請求項1】式

【化1】



〔式中、R¹はインドリル基、ベンゾフラニル基、ピリジル基、1, 3-ベンゾジオキサソリル基、ナフチル基、キノリル基、フラニル基、ピロリル基、ピラゾリル基、イミダゾリル基若しくはチエノ〔2, 3-b〕チエニル基または置換基を有するインドリル基、ベンゾフラニル基、ピリジル基、1, 3-ベンゾジオキサソリル基、ナフチル基、キノリル基、フラニル基、ピロリル基、ピラゾリル基、イミダゾリル基若しくはチエノ〔2, 3-b〕チエニル基を示し、R²は低級アルコキシ基を示す。〕で表わされる4(5)-(3-インドリル)イミダゾール誘導体またはその塩。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する分野】本発明は、Ca-カルモジュリン依存性ホスホジエステラーゼ(PDE I)阻害作用を有する4(5)-(3-インドリル)イミダゾール誘導体およびその塩に関する。

【0002】

【従来の技術】従来、Ca-カルモジュリン依存性ホスホジエステラーゼ(PDE I)を選択的に阻害し、細胞内のcAMPやcGMPの濃度を上昇させ、脳血管拡張作用や中枢機能改善作用を有する化合物としてはビンボセチン、8-メトキシメチル-IBMX、KS-505等の化合物が知られている(Physiol.Rev.,1995,75(4),725.)。しかしながら、本発明で示す4(5)-(3-インドリル)イミダゾール骨格を有する化合物がCa-カルモジュリン依存性ホスホジエステラーゼ(PDE I)阻害作用を有することの報告は一切ない。

【0003】一方、特開平2-188579号公報には4(5)-(3-インドリル)イミダゾール誘導体として、フェニル基、2-フルオロフェニル基、3-フルオロフェニル基、4-フルオロフェニル基、2, 3-ジフルオロフェニル基、3-(トリフルオロメチル)フェニル基、1-ナフチル基、4-ビフェニル基等のアリール基をイミダゾール環の2-位に有する化合物が開示されているが、本発明の化合物については全く記載がない。また、これらの化合物は抗炎症作用を有することが示されているのみであり、本発明で示すCa-カルモジュリン依存性ホスホジエステラーゼ(PDE I)阻害作用に関する報告はない。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、Ca-カルモジュリン依存性ホスホジエステラーゼ(PDE I)を選択的に阻害する化合物を提供し、脳血管閉塞後の中枢機能低下症、脳血管性痴呆症、老人性痴呆症、記憶・学習機能障害等の疾患に対する脳循環または中枢機能改善に役立てることにある。

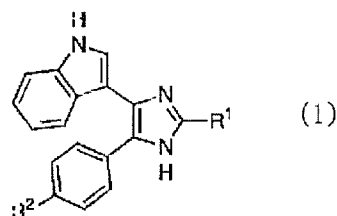
【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、Ca-カルモジュリン依存性ホスホジエステラーゼ(PDE I)阻害作用を有する化合物を鋭意検討した結果、ある種の4(5)-(3-インドリル)イミダゾール骨格を有する化合物が当該目的を満たすことを見だし、さらにその知見に基づき本発明を完成した。

【0006】すなわち本発明は、式

【0007】

【化2】



【0008】〔式中、R¹はインドリル基、ベンゾフラニル基、ピリジル基、1, 3-ベンゾジオキサソリル基、ナフチル基、キノリル基、フラニル基、ピロリル基、ピラゾリル基、イミダゾリル基若しくはチエノ〔2, 3-b〕チエニル基、または置換基を有するインドリル基、ベンゾフラニル基、ピリジル基、1, 3-ベンゾジオキサソリル基、ナフチル基、キノリル基、フラニル基、ピロリル基、ピラゾリル基、イミダゾリル基若しくはチエノ〔2, 3-b〕チエニル基を示し、R²は低級アルコキシ基を示す。〕で表わされる4(5)-(3-インドリル)イミダゾール誘導体またはその塩である。

【0009】

【発明の実施の形態】本発明において低級アルコキシ基とは炭素数1~6の直鎖または分枝状のアルコキシ基を意味し、例えばメトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基、イソプロポキシ基、ブトキシ基、イソブトキシ基、sec-ブトキシ基、tert-ブトキシ基、ペンチルオキシ基、イソペンチルオキシ基、ヘキシルオキシ基等が挙げられる。

【0010】R¹の置換基としては、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、sec-ブチル基、tert-ブチル基等の低級アルキル基、トリフルオロメチル基等のパーフルオロアルキル基、フッ素原子、塩素原子、臭素原子等のハロゲン原子等を挙げることができる。

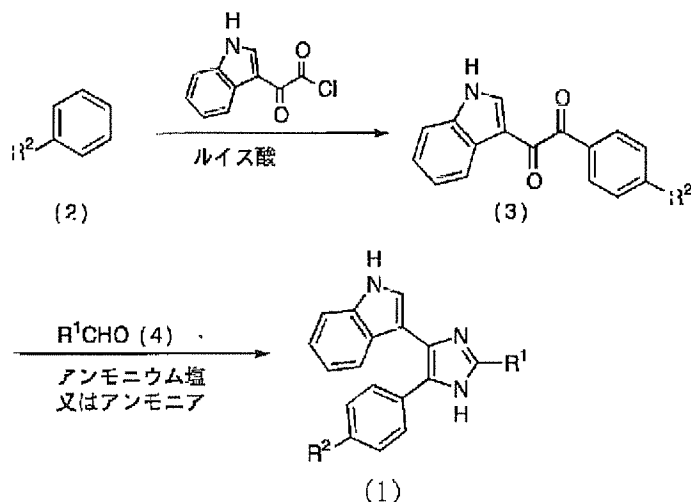
【0011】また、塩とは医薬的に享受されるものであればよく、例えば塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩等の無機酸塩やメタンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩

等のスルホン酸塩等を挙げることができる。

【0012】本発明の化合物は、例えば下記に示す製造スキームにより製造することができる。

【0013】

【化3】



【0014】(式中、 R^1 および R^2 は前記と同義である。)

すなわち、インドール-3-グリオキシリルクロライドと式(2)で表される化合物をルイス酸存在下、縮合して式(3)で表される化合物を得る。

【0015】ここで、ルイス酸としては塩化アルミニウム、無水塩化第二スズ、臭化亜鉛、無水四塩化チタン等を用いることができ、反応溶媒としては塩化メチレン、クロロホルム、1, 2-ジクロロエタン、四塩化炭素、二硫化炭素、ニトロエタン、ニトロベンゼン等の溶媒を用いることができる。反応温度としては 0°C から還流温度である。

【0016】次いで、式(3)で表される化合物と式(4)で表される化合物を過剰のアンモニアまたはアンモニウム塩存在下、反応させることにより本発明化合物(1)を得ることができる。ここで、アンモニウム塩としては酢酸アンモニウム、シュウ酸アンモニウム、炭酸アンモニウム等を用いることができ、反応溶媒としては、酢酸、プロピオン酸等の脂肪酸類、メタノール、エタノール等のアルコール類、ジオキサン、テトラヒドロ

フラン等のエーテル類等を用いることができる。反応温度は室温から還流温度である。

【0017】

【発明の効果】本発明の化合物は、Ca-カルモジュリン依存性ホスホジエステラーゼ(PDE I)阻害作用を有し、細胞内のcAMPやcGMPの濃度を上昇させることにより、薬理作用を発現する。PDE Iは血管平滑筋、脳に多く存在し、PDE I阻害剤が脳血管拡張作用や中枢機能改善作用を有することから脳血管閉塞後の中枢機能低下症、脳血管性痴呆症、老人性痴呆症、記憶・学習機能障害等の疾患に対する脳循環または中枢機能改善に有用である。

【0018】

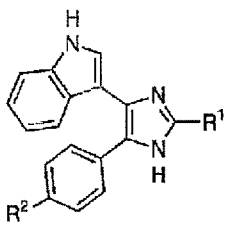
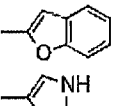
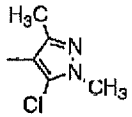
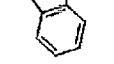
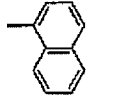
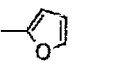
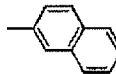
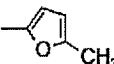
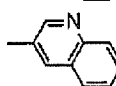
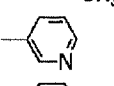
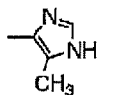
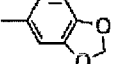
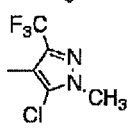
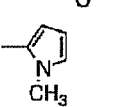

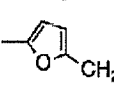
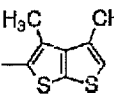
【実施例】以下、実施例および試験例を挙げて本発明を更に詳細に説明する。

【0019】また、実施例1~16により製造した化合物の構造式を表1に示す。ここで化合物番号は実施例番号を示す。

【0020】

【表1】

表1

構造式					
化合物番号	R¹	R²	化合物番号	R¹	R²
1		OCH₃	10		OCH₃
2		OCH₃	11		OCH₃
3		OCH₃	12		OCH₃
4		OCH₃	13		OCH₃
5		OCH₃	14		OCH₃
6		OCH₃	15		OCH₃
7		OCH₃	16		OCH₃
8		OCH₃			
9		OCH₃			

【0021】実施例1

2-(2-ベンゾフラン-5-イル)-4-(5-(3-インドリル)-5(4)-(4-メトキシフェニル)イミダゾール

(1) アニソール(21.6g, 0.20mol)と市販のインドール-3-グリオキシリルクロライド(20.8g, 0.10mol)の塩化メチレン(200ml)溶液に、氷冷下、無水塩化アルミニウム(40.0g, 0.30mol)を少量ずつ加え、室温で一晩撹拌した。反応溶液を氷水にあげ、減圧下で塩化メチレンを留去した。析出した不溶物を濾取し、水洗した後、アセトンに溶解した。乾燥後、溶媒を減圧留去して3-(4-メトキシフェニルグリオキシリル)インドール(21.57g)を得た。このものはこれ以上精製することなしに次の反応に用いた。

【0022】(2) 3-(4-メトキシフェニルグリオキシリル)インドール(0.56g, 2.0mmol)とベンゾフラン-2-カルボキサリデヒド(0.29g, 2.0mmol)の酢酸(10ml)溶液に酢酸アンモニウム(1.56g, 20.3mmol)を加え、5時間還流した。反応溶液を室温まで冷却した後、水にあげ、飽和炭酸ナトリウム水溶液で中和した。塩化メチレ

ンで抽出し、乾燥して、溶媒を減圧留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー〔溶出溶媒；クロロホルム〕で精製して表題化合物(0.62g)を得た。

【0023】mp. 237~240°C

¹H-NMR(200MHz, DMSO-d₆) δ(ppm); 3.73(s, 3H), 6.83(d, J=9Hz, 2H), 6.95(t, J=8Hz, 1H), 7.14(t, J=8Hz, 1H), 7.25-7.73(m, 10H), 11.41(s, 1H), 13.03(bs, 1H)

MASS(m/e); 405(M⁺).

【0024】実施例1と同様にして以下の実施例2~16の化合物を得た。

【0025】実施例2

2, 4(5)-ジ(3-インドリル)-5(4)-(4-メトキシフェニル)イミダゾール

¹H-NMR(200MHz, DMSO-d₆) δ(ppm); 3.71(s, 3H), 6.76-7.23(m, 7H), 7.40-7.66(m, 5H), 7.93(s, 1H), 8.53(s, 1H), 11.28(s, 1H), 11.40(s, 1H), 12.02(s, 1H)

MASS(m/e); 404(M⁺).

【0026】実施例3

2-(2-フラン-5-イル)-4(5)-(3-インドリル)-5(4)-(4-メトキシフェニル)イミダゾール

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, DMSO- d_6) δ (ppm); 3.72(s, 3H), 6.62-6.68(m, 1H), 6.73-6.99(m, 4H), 7.05-7.19(m, 2H), 7.40-7.64(m, 3H), 7.79(s, 1H), 11.43(s, 1H), 12.55(s, 1H)
MASS (m/e); 355(M^+).

【0027】実施例4

4(5)-(3-インドリル)-5(4)-(4-メトキシフェニル)-2-(5-メチル-2-フラニル)イミダゾール

mp. 147~148.5°C

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ (ppm); 2.40(s, 3H), 3.71(s, 3H), 6.31(d, J=2Hz, 1H), 6.84(d, J=7Hz, 2H), 6.93-7.03(m, 2H), 7.08-7.18(m, 2H), 7.43-7.50(m, 3H), 7.68(d, J=2Hz, 1H), 11.45(s, 1H), 13.45(bs, 1H)

MASS (m/e); 369(M^+).

【0028】実施例5

4(5)-(3-インドリル)-5(4)-(4-メトキシフェニル)-2-(3-ピリジル)イミダゾール

mp. 142.5~143°C

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, DMSO- d_6) δ (ppm); 3.70(s, 3H), 6.68(d, J=8Hz, 2H), 6.92-6.98(m, 2H), 7.08-7.18(m, 2H), 7.46-7.62(m, 4H), 8.37(d, J=8Hz, 1H), 8.54(d, J=4Hz, 1H), 9.25(s, 1H), 11.47(s, 1H), 12.67(s, 1H)

MASS (m/e); 366(M^+).

【0029】実施例6

2-(1,3-ベンゾジオキサソール-5-イル)-4(5)-(3-インドリル)-5(4)-(4-メトキシフェニル)イミダゾール

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ (ppm); 3.69(s, 3H), 5.77(s, 2H), 6.52-6.16(m, 3H), 6.84-7.29(m, 7H), 7.42(d, J=8Hz, 2H), 8.98(s, 1H)

MASS (m/e); 369(M^+).

【0030】実施例7

4(5)-(3-インドリル)-5(4)-(4-メトキシフェニル)-2-(N-メチルピロール-2-イル)イミダゾール

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ (ppm); 3.76(s, 3H), 4.09(s, 3H), 6.13-6.17(m, 1H), 6.37-6.44(m, 1H), 6.68-6.82(m, 3H), 7.07(t, J=7Hz, 1H), 7.17-7.27(m, 2H), 7.36(d, J=7Hz, 2H), 7.50-7.60(m, 3H), 8.54(s, 1H)

MASS (m/e); 368(M^+).

【0031】実施例8

2-(5-エチルフラン-2-イル)-4(5)-(3-インドリル)-5(4)-(4-メトキシフェニル)イミダゾール

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ (ppm); 1.20(t, J=7Hz, 3H), 2.62(q, J=7Hz, 2H), 3.69(s, 3H), 6.02(d, J=4Hz, 1H), 6.68(d, J=8Hz, 2H), 6.80(d, J=4Hz, 1H), 6.99(t, J=8Hz, 1H), 7.14(t, J=8Hz, 1H), 7.29(d, J=8Hz, 1H), 7.35(d, J=8Hz, 1H), 7.48(d, J=8Hz, 2H), 9.05(s, 1H)

MASS (m/e); 383(M^+).

【0032】実施例9

2-(3,4-ジメチルチエノ[2,3-b]チオフェン-2-イル)-4(5)-(3-インドリル)-5(4)-(4-メトキシフェニル)イミダゾールmp. 161~164°C

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CD_3OD) δ (ppm); 2.54(s, 3H), 2.72(s, 3H), 3.75(s, 3H), 6.80(d, J=8Hz, 2H), 6.92(t, J=8Hz, 1H), 7.05(s, 1H), 7.11(t, J=8Hz, 1H), 7.22(d, J=8Hz, 1H), 7.39(s, 1H), 7.41(d, J=8Hz, 1H), 7.47(d, J=8Hz, 2H)

MASS (m/e); 455(M^+).

【0033】実施例10

2-(5-クロロ-1,3-ジメチルピラゾール-4-イル)-4(5)-(3-インドリル)-5(4)-(4-メトキシフェニル)イミダゾールmp. 230~234°C

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ (ppm); 2.37(s, 3H), 3.68(s, 3H), 3.80(s, 3H), 6.77(d, J=9Hz, 2H), 6.96(t, J=8Hz, 1H), 7.06-7.19(m, 2H), 7.42-7.53(m, 4H), 11.38(s, 1H), 11.94(s, 1H)

MASS (m/e); 417(M^+).

【0034】実施例11

4(5)-(3-インドリル)-5(4)-(4-メトキシフェニル)-2-(1-ナフチル)イミダゾールmp. 255~256°C

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, DMSO- d_6) δ (ppm); 3.71(s, 3H), 6.81(d, J=8Hz, 2H), 6.92-6.99(m, 2H), 7.10-7.23(m, 2H), 7.54-7.67(m, 6H), 7.93-8.09(m, 4H), 11.45(s, 1H), 12.51(s, 1H)

MASS (m/e); 415(M^+).

【0035】実施例12

4(5)-(3-インドリル)-5(4)-(4-メトキシフェニル)-2-(2-ナフチル)イミダゾールmp. 150~152°C

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, DMSO- d_6) δ (ppm); 3.72(s, 3H), 6.84(d, J=9Hz, 2H), 6.96(t, J=7Hz, 1H), 7.14(t, J=7Hz, 1H), 7.43-7.61(m, 7H), 7.91-8.03(m, 3H), 8.28(d, J=7Hz, 1H), 8.59(s, 1H), 11.39(s, 1H), 12.72(s, 1H)

MASS (m/e); 415(M^+).

【0036】実施例13

4(5)-(3-インドリル)-5(4)-(4-メトキシフェニル)-2-(3-キノリル)イミダゾールmp. >280°C

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, DMSO- d_6) δ (ppm); 3.73(s, 3H), 6.86(d, J=7Hz, 2H), 6.96(t, J=7Hz, 1H), 7.14(t, J=7Hz, 1H), 7.47(d, J=7Hz, 1H), 7.53-7.70(m, 4H), 7.78(t, J=7Hz, 1H), 8.00-8.11(m, 2H), 8.91(d, J=2Hz, 1H), 9.62(d, J=2Hz, 1H), 11.42(s, 1H), 12.92(s, 1H)

MASS (m/e); 416(M^+).

【0037】実施例14

4(5)-(3-インドリル)-5(4)-(4-メト

キシフェニル)-2-[5(4)-メチルイミダゾール-4(5)-イル]イミダゾール

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, DMSO- d_6) δ (ppm); 2.58(s, 3H), 3.71(s, 3H), 6.77(d, J=7Hz, 2H), 6.89(t, J=7Hz, 1H), 7.08(t, J=7Hz, 1H), 7.41(d, J=7Hz, 2H), 7.47(d, J=7Hz, 2H), 7.60(s, 1H), 11.24(s, 1H), 12.07(s, 1H)

MASS (m/e); 369(M^+).

【0038】実施例15

2-[5-クロロ-1-メチル-3-(トリフルオロメチル)ピラゾール-4-イル]-4(5)-(3-インドリル)-5(4)-(4-メトキシフェニル)イミダゾール

mp. 109°C

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, DMSO- d_6) δ (ppm); 3.71(s, 3H), 4.00(s, 3H), 6.73-6.84(m, 1H), 6.96(t, J=7Hz, 1H), 7.05-7.22(m, 2H), 7.34-7.61(m, 4H), 11.43(s, 1H), 12.30(s, 1H)

MASS (m/e); 471(M^+).

【0039】実施例16

2-(3-フラニル)-4(5)-(3-インドリル)-5(4)-(4-メトキシフェニル)イミダゾール
mp. 115°C

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, DMSO- d_6) δ (ppm); 3.70(s, 3H), 6.80(d, J=7Hz, 2H), 6.93(t, J=7Hz, 1H), 7.00(d, J=2Hz, 1H), 7.03-7.30(m, 2H), 7.42-7.56(m, 4H), 7.76(d, J=2Hz, 1H), 8.18(s, 1H), 11.36(s, 1H), 12.30(s, 1H)

MASS (m/e); 355(M^+).

【0040】試験例

PDE I 阻害作用

PDE I は牛大脳より調製し、Masuokaらの2段階法(Biochem. Biophys. Res. Commun., 169, 315-322)に準じて測定した。

【0041】50mM Tris-HCl (pH8.0)、5mM塩化マグネシウム、0.1mg/ml牛血清アルブミン、0.2mM塩化カルシウム、100U/mlカルモジュリンの反応混合液にPDE I 溶液とDMSOに溶解した被験化合物を試験管に加

え200 μ lとした。試験管に基質として5 μ M [$8-^3\text{H}$] cAMP (50 μ l, 23.125Kbq/ml)を加え(終濃度1 μ M、4.625Kbq/ml)最終容量250 μ lとして、30°Cで15分間水浴中にて反応させた。なお、このときの反応混合液の各物質の濃度は250 μ lでの最終濃度で、DMSOの最終濃度は1%になるようにした。反応は試験管を沸騰水浴中に移し5分間加熱することにより停止させ、その後、氷水中に移し冷却した。

【0042】次に、1mg/ml蛇毒(50 μ l)を加え、30°Cで10分間反応させた後、水(2ml)を加え、陽イオン交換樹脂カラム[Bio-Rad社製、AG50W-X4(樹脂容量;0.2ml)]に反応液を通した。水で未反応物を十分洗浄した後、樹脂に吸着した放射性アデノシンを1N-アンモニア水(1ml)で溶出させ放射活性測定用のバイアルに受け、液体シンチレーション(7ml)を加え、攪拌した。 ^3H アデノシンのDPM値を液体シンチレーションカウンターで測定し、その数値を酵素活性とした。

【0043】被験化合物のPDE I に対する阻害活性は、溶媒処置群と比較することにより評価した。結果を表2に示す。

【0044】

【表2】

表2

化合物番号	PDE I 阻害活性 (% of inhibition)
2	78
3	57
5	61
14	75
16	59

*被験化合物の濃度は10 μ Mである。

フロントページの続き

(51)Int. Cl.⁶

識別記号

FI

C07D 401/14

209

C07D 401/14

209

403/14

207

403/14

207

209

209

405/14

209

405/14

209

409/14

209

409/14

209

495/04

101

495/04

101

// C12N 9/99

C12N 9/99

(72) 発明者 太田 知己
東京都豊島区高田 3 丁目 24 番 1 号 大正製
薬株式会社内

(72) 発明者 中西 美砂
東京都豊島区高田 3 丁目 24 番 1 号 大正製
薬株式会社内

(72) 発明者 富沢 一雪
東京都豊島区高田 3 丁目 24 番 1 号 大正製
薬株式会社内